

Benzofuro-1,4-diazepin-2-on-Derivate

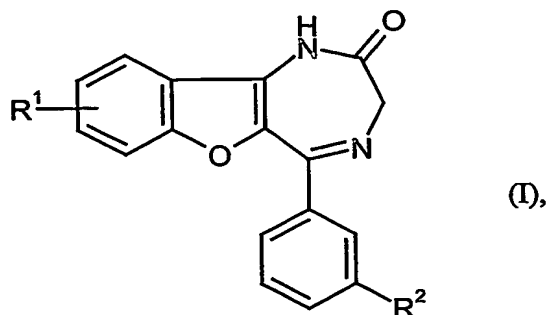
Die vorliegende Erfindung betrifft neue Benzofuro-1,4-diazepin-2-on-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung als P2X₄-Rezeptorantagonisten zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere von Arteriosklerose, Restenose und anderen entzündlichen Erkrankungen.

Die Arteriosklerose ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei deren Entstehung viele verschiedene Faktoren Einfluss nehmen. U.a. spielen entzündliche Prozesse hierbei eine zentrale Rolle, wobei die Entzündung induzierende Zytokine wie CD40L und IFN γ beteiligt sind [P. Libby, *Nature* 420 (6917): 868-74 (2002)]. Der purinerge Rezeptor P2X₄ gehört zur P2X-Familie. Beim Menschen sind bisher sechs verschiedene P2X-Rezeptoren beschrieben. Es handelt sich hierbei um Kalzium-permeable Kanäle, die durch ATP aktiviert werden können [F. Di Virgilio et al., *Blood* 97 (3): 587-600 (2001); R.A. North, A. Surprenant, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 40: 563-80 (2000)]. Es konnte gezeigt werden, dass der P2X₄-Kanal in stark vaskularisierten Organen und Gefäßen hoch exprimiert ist [K. Yamamoto et al., *Circ. Res.* 87(5): 385-91 (2000)]. Überraschenderweise ist der P2X₄-Rezeptor auch auf humanen Monozyten exprimiert. Bei Inkubation humaner Monozyten mit CD40L und IFN γ konnte ein fünffacher Anstieg der P2X₄-Expression beobachtet werden. Auch in der Gefäßwand der Aorta von Kaninchen nach Schädigung durch Ballonangioplastie und Cholesterin-Fütterung [T.J. Pulvirenti et al., *J. Neurocytol.* 29 (9): 623-31 (2000)] sowie in den arteriosklerotisch veränderten Gefäßabschnitten der apoE-knockout-Maus wurde eine hohe Expression des P2X₄-Rezeptors gefunden. Da aktivierte Monozyten im frühen Stadium der Atherogenese und bei der Restenose eine Schlüsselfunktion einnehmen und die Aktivierung der Monozyten durch die genannten Zytokine erfolgt, führt eine Inhibition der Aktivierung zur Reduktion der Atherogenese [P. Libby, *Nature* 420 (6917): 868-74 (2002)]. Da offensichtlich die Monozytenaktivierung durch CD40L und IFN γ über die Erhöhung der P2X₄-Rezeptorexpression und den damit verbundenen erhöhten Kalzium-Einstrom assoziiert ist, sollte eine Blockade der P2X₄-Rezeptoren die entzündlichen Prozesse reduzieren [F. Di Virgilio, A. Solini, *Br. J. Pharmacol.* 135 (4): 831-42 (2002)]. Somit könnten Krankheiten, bei denen entzündliche Prozesse eine Rolle spielen, über die Blockade der P2X₄-Rezeptoren zu therapieren sein.

Neben den Indikationen Arteriosklerose und Restenose sowie ihren Folgeerkrankungen (Schlaganfall, Angina pectoris, Herzinfarkt, Nierenversagen, Durchblutungsstörungen der Gliedmaßen) könnten damit auch andere entzündliche Erkrankungen, wie z.B. Psoriasis und rheumatoide Arthritis, über den genannten Mechanismus einer Behandlung zugänglich werden.

Die Synthese einiger Benzofuro[3,2-e]-1,4-diazepin-2-on-Derivate ist in J. Heterocyclic Chem. 16, 189-90 (1979) und *ibid.* 20, 1251-1254 (1983) beschrieben. Benzofuro-1,4-diazepin-Derivate mit anti-Ulcer-Wirkung werden in der EP 350 131-A offenbart.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



5

in welcher

R^1 Halogen

und

R^2 Wasserstoff, Halogen, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$, $-C(O)-NR^4R^5$, $-SO_2-OR^3$ oder $-SO_2-NR^4R^5$, worin

10

R^3 , R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_6) -Alkyl stehen,

oder

R^1 Wasserstoff

und

R^2 Halogen, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$, $-C(O)-NR^4R^5$, $-SO_2-OR^3$ oder $-SO_2-NR^4R^5$, worin

15

R^3 , R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_6) -Alkyl stehen,

bedeutet.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in Form ihrer Salze, Solvate und Solvate ihrer Salze vorliegen.

20

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die Substituenten im Allgemeinen die folgende Bedeutung:

5 (C₁-C₆)-Alkyl und (C₁-C₄)-Alkyl stehen im Rahmen der Erfindung für einen geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 6 bzw. 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Bevorzugt ist ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl und tert.-Butyl.

Halogen schließt im Rahmen der Erfindung Fluor, Chlor, Brom und Iod ein. Bevorzugt sind Chlor oder Brom.

10 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von dem Substitutionsmuster in stereoisomeren Formen, die sich entweder wie Bild und Spiegelbild (Enantiomere), oder die sich nicht wie Bild und Spiegelbild (Diastereomere) verhalten, existieren. Die Erfindung betrifft sowohl die Enantiomeren oder Diastereomeren als auch deren jeweilige Mischungen. Die Racemformen lassen sich ebenso wie die Diastereomeren in bekannter Weise in die stereoisomer einheitlichen Bestandteile trennen.

15 Weiterhin können bestimmte Verbindungen in tautomeren Formen vorliegen. Dies ist dem Fachmann bekannt, und derartige Verbindungen sind ebenfalls vom Umfang der Erfindung umfasst.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch als Salze vorliegen. Im Rahmen der Erfindung sind physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt.

20 Physiologisch unbedenkliche Salze können Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen mit anorganischen oder organischen Säuren sein. Bevorzugt werden Salze mit anorganischen Säuren wie beispielsweise Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure oder Schwefelsäure, oder Salze mit organischen Carbon- oder Sulfonsäuren wie beispielsweise Essigsäure, Propionsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Benzoessäure, oder Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure
25 oder Naphthalindisulfonsäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen mit Basen sein, wie beispielsweise Metall- oder Ammoniumsalze. Bevorzugte Beispiele sind Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- oder Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Magnesium- oder Calciumsalze), sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak oder organischen
30 Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Dibenzylamin,

N-Methylmorpholin, Dihydroabietylamin, 1-Ephenamin, N-Methylpiperidin, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen und ihre Salze können auch in Form ihrer Solvate, insbesondere in Form ihrer Hydrate vorliegen.

5 Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), in welcher

R^1 Chlor oder Brom

und

R^2 Wasserstoff, Chlor, Brom, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$ oder $-C(O)-NR^4R^5$, worin

10 R^3, R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl stehen,

oder

R^1 Wasserstoff

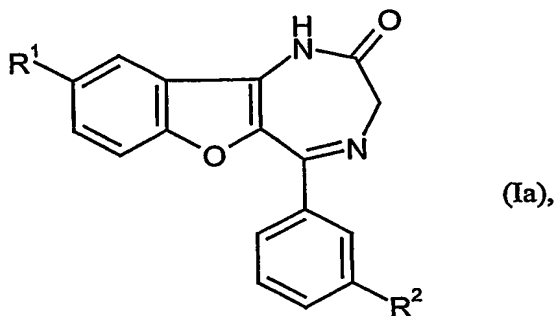
und

15 R^2 Chlor, Brom, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$ oder $-C(O)-NR^4R^5$,
worin

R^3, R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl stehen,

bedeutet.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia)



20 in welcher

R¹ Chlor oder Brom

und

R² Wasserstoff, Chlor, Brom, Nitro oder Cyano,

oder

5 R¹ Wasserstoff

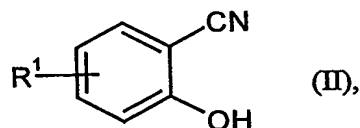
und

R² Chlor, Brom, Nitro oder Cyano

bedeutet.

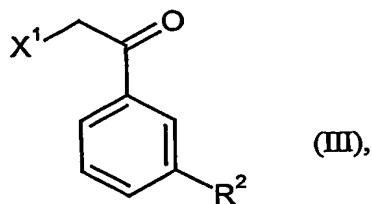
Außerdem wurde ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen gefunden,

10 dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der Formel (II)



in welcher R¹ die oben angegebenen Bedeutungen hat,

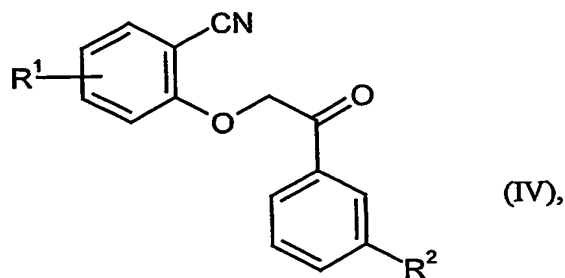
in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer Base mit einer Verbindung der Formel (III)



15 in welcher R² die oben angegebenen Bedeutungen hat und

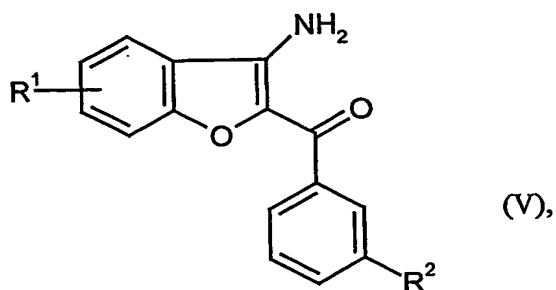
X¹ für eine geeignete Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom oder Iod steht,

zunächst zu Verbindungen der Formel (IV)



in welcher R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

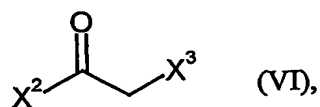
umsetzt, diese dann unter zwischenzeitlicher Isolierung oder in einer Eintopfreaktion in Gegenwart einer Base zu Verbindungen der Formel (V)



5

in welcher R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

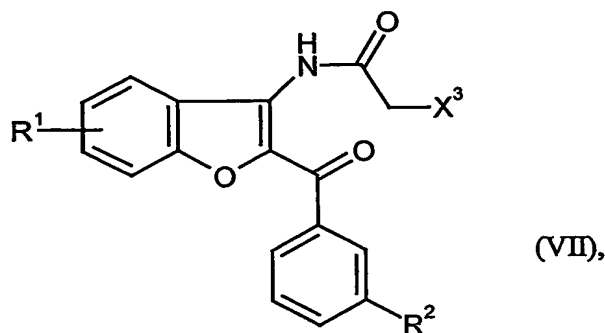
cyclisiert, anschließend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer Base mit einer Verbindung der Formel (VI)



10 in welcher

X² und X³ gleich oder verschieden sind und für eine geeignete Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom oder Iod stehen,

in Verbindungen der Formel (VII)



in welcher R¹, R² und X³ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

überführt, abschließend in einem inerten Lösungsmittel mit Ammoniak unter Cyclisierung umgesetzt und die resultierenden Verbindungen der Formel (I) gegebenenfalls mit den entsprechenden
 5 Lösungsmitteln und/oder Basen oder Säuren in ihre Solvate, Salze und/oder Solvate der Salze überführt.

Als Lösungsmittel für den Verfahrensschritt (II) + (III) → (IV) eignen sich inerte organische Lösungsmittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan,
 10 Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfractionen, Ester wie Ethylacetat, Ketone wie Aceton oder 2-Butanon, Heteroaromaten wie Pyridin, Amide wie Dimethylformamid, Dialkylsulfoxide wie Dimethylsulfoxid, oder Nitrile wie Acetonitril. Ebenso ist es möglich, Gemische der
 15 genannten Lösemittel einzusetzen. Bevorzugt ist Dimethylformamid.

Als Base für den Verfahrensschritt (II) + (III) → (IV) eignen sich die üblichen anorganischen oder organischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkali- oder Erdalkalicarbonate wie Natrium-, Kalium- oder Calciumcarbonat, Alkalihydride wie Natriumhydrid, Amide wie Lithium-bis(trimethylsilyl)amid oder Lithiumdiisopropylamid, oder organische Amine wie Pyridin, 4-*N,N*-
 20 Dimethylaminopyridin, 4-Pyrrolidinopyridin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN) oder 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Besonders bevorzugt ist Triethylamin.

Die Base wird hierbei in einer Menge von 1 bis 5 Mol, bevorzugt in einer Menge von 1 bis 2 Mol, bezogen auf 1 Mol der Verbindung der Formel (II) eingesetzt.

25 Die Reaktion erfolgt im Allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +150°C, bevorzugt in einem Temperaturbereich von +20°C bis +100°C. Die Umsetzung kann bei normalem, erhöhtem

oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. von 0.5 bis 5 bar). Im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Als Lösungsmittel für den Verfahrensschritt (IV) → (V) eignen sich gleichfalls inerte organische Lösungsmittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören
5 Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfractionen, Ketone wie Aceton oder 2-Butanon,
10 Heteroaromaten wie Pyridin, Amide wie Dimethylformamid, Dialkylsulfoxide wie Dimethylsulfoxid, oder Nitrile wie Acetonitril. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen. Bevorzugt sind Methanol und Ethanol.

Als Base für den Verfahrensschritt (IV) → (V) eignen sich die üblichen anorganischen oder organischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkali- oder Erdalkalicarbonate wie Natrium-,
15 Kalium- oder Calciumcarbonat, Alkalihydroxide wie Lithium-, Natrium- oder Kaliumhydroxid, Alkali-Alkoholate wie Natrium- oder Kaliummethanolat, Natrium- oder Kaliumethanolat oder Kalium-tert.-butylat, Alkalihydride wie Natriumhydrid, Amide wie Lithium-bis(trimethylsilyl)-amid oder Lithiumdiisopropylamid, oder organische Amine wie Pyridin, 4-N,N-Dimethylamino-pyridin, 4-Pyrrolidinopyridin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, N-Methylmorpholin, N-
20 Methylpiperidin, 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN) oder 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Besonders bevorzugt sind Natriummethanolat und Natriumethanolat.

Die Base wird hierbei in einer Menge von 0.5 bis 5 Mol, bevorzugt in einer Menge von 1 bis 2 Mol, bezogen auf 1 Mol der Verbindung der Formel (IV) eingesetzt.

Die Reaktion erfolgt im Allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +120°C, bevorzugt
25 in einem Temperaturbereich von +20°C bis +100°C. Die Umsetzung kann bei normalem, erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. von 0.5 bis 5 bar). Im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Als Lösungsmittel für den Verfahrensschritt (V) + (VI) → (VII) eignen sich alle inerten Lösungsmittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlor-
30 ethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfractionen, Ester wie Ethylacetat, Ketone wie Aceton oder

2-Butanon, Amide wie Dimethylformamid, Dialkylsulfoxide wie Dimethylsulfoxid, oder Nitrile wie Acetonitril. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen. Bevorzugt sind Dichlormethan und Trichlormethan.

Als Base für den Verfahrensschritt (V) + (VI) → (VII) eignen sich die üblichen anorganischen oder organischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkali- oder Erdalkalicarbonate und -hydrogencarbonate wie Natrium-, Kalium- oder Calciumcarbonat und Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat, Alkalihydride wie Natriumhydrid, Amide wie Lithium-bis(trimethylsilyl)amid oder Lithiumdiisopropylamid, oder organische Amine wie Pyridin, 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin, 4-Pyrrolidinopyridin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN) oder 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Besonders bevorzugt ist Natriumhydrogencarbonat.

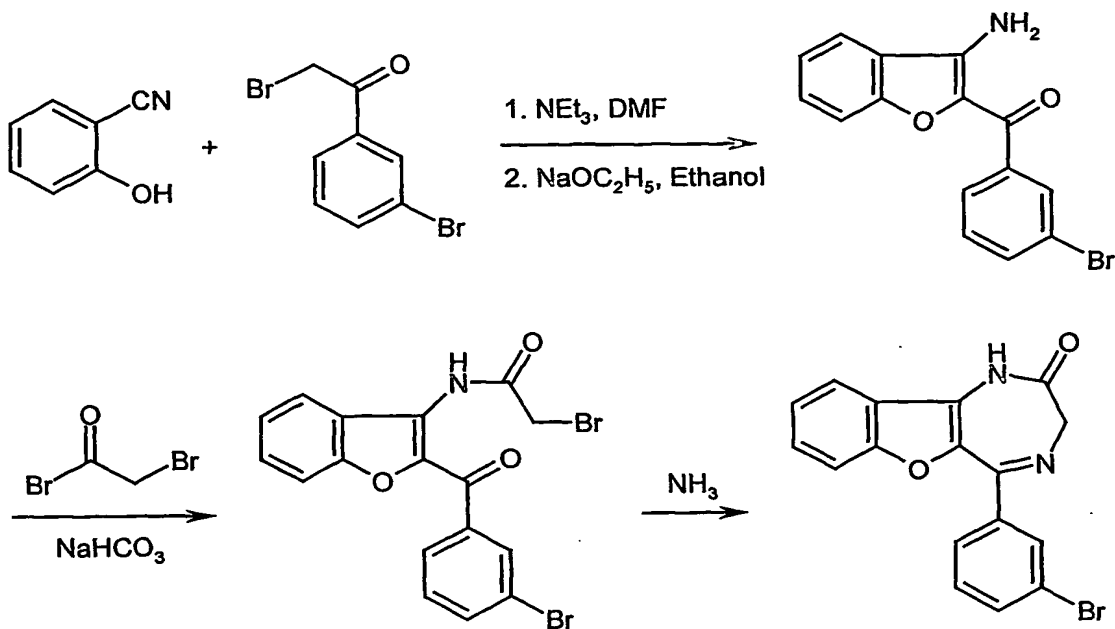
Die Base wird hierbei in einer Menge von 1 bis 10 Mol, bevorzugt in einer Menge von 1 bis 5 Mol, bezogen auf 1 Mol der Verbindung der Formel (V) eingesetzt.

Die Reaktion erfolgt im Allgemeinen in einem Temperaturbereich von -20°C bis +50°C, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -20°C bis +20°C. Die Umsetzung kann bei normalem, erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. von 0.5 bis 5 bar). Im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Als Lösungsmittel für den Verfahrensschritt (VII) → (I) eignen sich alle inerten Lösungsmittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, oder Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfractionen. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen. Bevorzugt ist Dioxan.

Die Verbindungen der Formeln (II), (III) und (VI) sind kommerziell erhältlich, literaturbekannt oder nach literaturüblichen Methoden herstellbar [vgl. z.B. J. Med. Chem. 13, 674-680 (1970)].

Das erfindungsgemäße Verfahren kann durch das folgende Formelschema veranschaulicht werden:

Schema

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches Wirkspektrum und eignen sich daher zur Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten bei Menschen und Tieren.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen wirken als Antagonisten des P2X_4 -Rezeptors.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften allein oder in Kombination mit anderen Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von entzündlichen Erkrankungen eingesetzt werden. Insbesondere eignen sie sich zur Behandlung von chronisch entzündlichen Erkrankungen der Gefäßintima wie beispielsweise Arteriosklerose und Restenose, von entzündlichen Erkrankungen des Zentralen Nervensystems wie beispielsweise Multiple Sklerose und Schmerz, von entzündlichen Erkrankungen des Bindegewebes wie beispielsweise rheumatoide Arthritis, chronische Polyarthrit, Pannikulitis und Tendinitis, von Morbus Bechterew, von entzündlichen Erkrankungen der Haut wie Psoriasis, Schuppenflechte und Neurodermitis, von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Enteritis, Enterokolitis, Morbus Crohn und Colitis ulcerosa, von entzündlichen Erkrankungen der kleinen Atemwege sowie von Myositis und Endokarditis.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können allein oder bei Bedarf in Kombination mit anderen Wirkstoffen vorzugsweise aus der Gruppe CETP-Inhibitoren, Antidiabetika, Antioxidantien, Thyroidhormone und/oder Thyroidmimetika, Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase, Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase-Genexpression, Squalensynthase-Inhibitoren, ACAT-Inhibitoren,

Cholesterin-Absorptionshemmer, Fibrate, MTP-Inhibitoren, Triglycerid-Senker, Nikotinsäure und -Derivate, Thrombozytenaggregationshemmer, Antikoagulantien, Calciumantagonisten, ACE-Hemmer, Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten, Beta-Blocker sowie steroidale und nicht-steroidale Anti-Phlogistika verabreicht werden.

- 5 Die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen lässt sich beispielsweise durch die im Beispielteil beschriebenen Tests prüfen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, vorzugsweise zusammen mit einem oder mehreren pharmakologisch unbedenklichen Hilfs- oder Trägerstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor

10 genannten Zwecken.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, dermal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat oder Stent. Bevorzugt ist die orale Applikation.

- 15 Für diese Applikationswege können die Wirkstoffe in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden. Für die orale Applikation eignen sich nach dem Stand der Technik funktionierende, schnell und/oder modifiziert den Wirkstoff abgebende Applikationsformen, wie z.B. Tabletten (nicht-überzogene sowie überzogene Tabletten, z.B. mit magensaftresistenten Überzügen), Kapseln, Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen. Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (z.B. intramuskulär, subcutan, intracutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von
- 20 Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten und sterilen Pulvern.
- 25 Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen/-lösungen, Sprays, lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- und Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, Milch, Pasten, Streupuder, Implantate oder Stents.
- 30 Die Wirkstoffe können in an sich bekannter Weise in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies geschieht unter Verwendung inerter nichttoxischer, pharmazeutisch geeigneter Hilfsstoffe. Hierzu zählen u.a. Trägerstoffe (z.B. mikrokristalline Cellulose), Lösungsmittel (z.B.

flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren (z.B. Natriumdodecylsulfat), Dispergiermittel (z.B. Polyvinylpyrrolidon), synthetische und/oder natürliche Biopolymere (z.B. Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie z.B. Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie Eisenoxide) oder Geschmacks- und/oder Geruchskorrigentien.

- 5 Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 10 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.005 bis 3 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation beträgt die Menge etwa 0.001 bis 100 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.005 bis 30 mg/kg Körpergewicht.

- 10 Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren
15 Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozent; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

- 20 Die nachfolgenden Ausführungsbeispiele erläutern die Erfindung. Die Erfindung ist nicht auf die Beispiele beschränkt.

Abkürzungen:

ICI	chemische Ionisation (bei MS)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
d.Th.	der Theorie (bei Ausbeute)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
LC/MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektroskopie
MS	Massenspektroskopie
NMR	Kernresonanzspektroskopie
R _f	Retentionsindex (bei DC)
R _t	Retentionszeit (bei LC/MS)

LC/MS-Methoden:**Methode 1:**

- 5 Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: Waters Alliance 2790; Säule: Uptisphere C 18, 50 mm x 2.0 mm, 3.0 µm; Eluent B: Acetonitril + 0.05% Ameisensäure, Eluent A: Wasser + 0.05% Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 5% B → 2.0 min 40% B → 4.5 min 90% B → 5.5 min 90% B; Ofen: 45°C; Fluss: 0.0 min 0.75 ml/min → 4.5 min 0.75 ml/min → 5.5 min 1.25 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

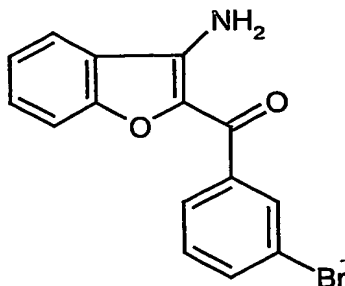
10 **Methode 2:**

Instrument: Micromass Platform LCZ mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Grom-SIL 120 ODS-4 HE, 50 mm x 2.0 mm, 3 µm; Eluent A: 1 l Wasser + 1 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 1 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 0.2 min 100% A → 2.9 min 30% A → 3.1 min 10% A → 4.5 min 10% A; Ofen: 55°C; Fluss: 0.8 ml/min; UV-Detektion:

15 208-400 nm.

A. Ausgangsverbindungen:**Beispiel I**

(3-Aminobenzofuran-2-yl)-(3-bromphenyl)-methanon

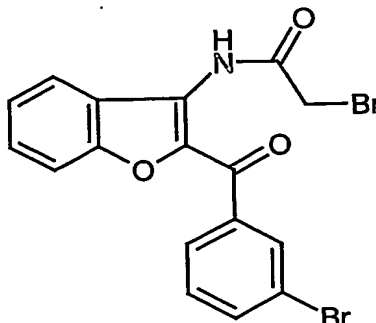


- 5 2.00 g (16.8 mmol) 2-Hydroxybenzonitril, 4.67 g (16.8 mmol) 3-Bromphenacylbromid und 1.87 g (18.5 mmol) Triethylamin in 20 ml Dimethylformamid werden 2 h bei 70°C gerührt. Nach Zugabe von 100 ml Ethylacetat wird die Reaktionsmischung mit Wasser (3 x 100 ml) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung (2 x 100 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 30 ml
- 10 Ethanol gelöst. Nach Zugabe von 5.98 g (18.5 mmol) Natriumethanolat wird die Mischung 2 h unter Rückfluss erhitzt. 50 ml Ethylacetat werden hinzugegeben, und die Mischung wird mit Wasser (3 x 100 ml) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung (2 x 100 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erhält man 5.08 g (92% d.Th.) des gewünschten Produkts.
- 15 MS (DCI): $m/z = 315.9$ $[M+H]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.27\text{--}7.36$ (m, 1H); 7.49-7.65 (m, 5H); 7.77-7.84 (m, 1H); 8.04-8.20 (m, 3H).

Beispiel II

2-Brom-*N*-(2-[(3-bromphenyl)carbonyl]-benzofuran-3-yl)acetamid



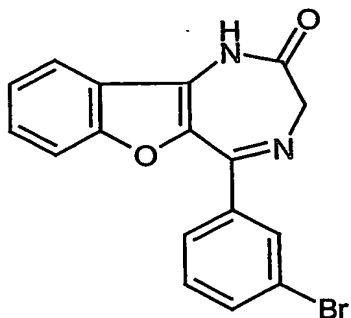
- Zu einer Mischung aus 5.03 g (15.9 mmol) der Verbindung aus Beispiel I und 5.35 g (63.6 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 250 ml Chloroform werden 3.53 g (17.5 mmol) Bromacetyl bromid bei 0°C gegeben. Die Mischung wird 1 h lang bei 0°C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck werden 200 ml Ethylacetat hinzugefügt, und die Mischung wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (100 ml) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung (100 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erhält man 5.81 g (83% d.Th.) des gewünschten Produkts.

MS (CI): $m/z = 436 [M+H]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 4.20$ (s, 2H); 7.37-8.14 (m, 8H); 10.98 (s, 1H).

B. Ausführungsbeispiele:**Beispiel 1**

5-(3-Bromphenyl)-1,3-dihydro-2H-benzofuro[3,2-e]-1,4-diazepin-2-on



- 5 Zu 5.37 g (12.3 mmol) der Verbindung aus Beispiel II in 100 ml Diethylether werden 245 ml (123 mmol) einer 0.5 M Lösung von Ammoniak in Dioxan gegeben. Die Mischung wird 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt. 100 ml Ethylacetat werden hinzugefügt, und die Mischung wird mit Wasser (3 x 250 ml) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.
- 10 Man erhält 1.81 g (42% d.Th.) des gewünschten Produkts.

$R_f = 0.24$ (Dichlormethan/Methanol 100:2)

MS (ESI): $m/z = 355$ $[M+H]^+$

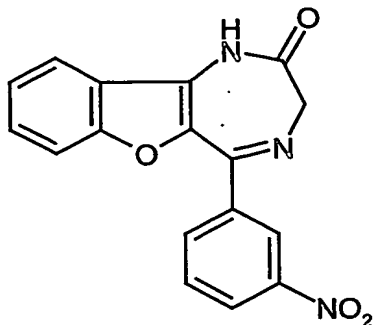
LC/MS (Methode 1): $R_t = 3.47$ min., $m/z = 354$ $[M]^+$

- $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 4.45$ (s, 2H); 7.37-7.80 (m, 6H); 7.88-7.93 (m, 1H); 7.96-8.03 (m, 1H); 11.59 (s, 1H).
- 15

Auf analoge Weise werden erhalten:

Beispiel 2

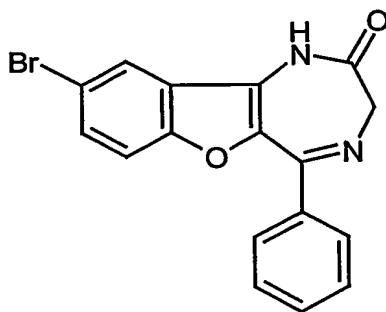
1,3-Dihydro-5-(3-nitrophenyl)-2*H*-benzofuro[3,2-*e*]-1,4-diazepin-2-on



LC/MS (Methode 2): $R_t = 3.5$ min., $m/z = 321$ $[M+H]^+$.

5 **Beispiel 3**

9-Brom-1,3-dihydro-5-phenyl-2*H*-benzofuro[3,2-*e*]-1,4-diazepin-2-on



LC/MS (Methode 2): $R_t = 3.5$ min., $m/z = 355$ $[M+H]^+$.

C. Beschreibung der biologischen Tests:

a) Zellulärer Assay:

Der P2X₄-Rezeptor ist ein Liganden-aktivierter Ionenkanal. Die Bindung des Agonisten ATP führt zur Aktivierung des P2X₄-Rezeptors, Öffnung des Ionenkanals und Einstrom von extrazellulärem Kalzium in die Zelle. Dieser Kalzium-Einstrom wird mit Hilfe des Kalzium-sensitiven Photo-
5 proteins Aequorin gemessen. Dazu wurde eine rekombinante CHO-Zelllinie (Chinesische Hamster-Ovarienzellen) mit konstitutiver Expression des humanen P2X₄-Rezeptors und von Apoequorin hergestellt.

Zur Versuchsdurchführung werden die CHO-Zellen 1-2 Tage vorher auf Mikrotiterplatten im 96-,
10 384- oder 1536-Vertiefungen-Format ausgesät, und zwar entsprechend des verwendeten Mikrotiterplatten-Formats mit 5000 (96-Format), 2000 (384-Format) oder 500 (1536-Format) Zellen pro Vertiefung. Am Tag des Experiments wird das Zellkulturmedium entfernt und die Zellen für 4 Stunden in physiologischer Salzlösung (Tyrode-Puffer) mit 5 µg/ml Coelenterazin inkubiert. Testsubstanzen werden 5 Minuten vor dem eigentlichen Experiment zugegeben. Zur Aktivierung
15 des P2X₄-Rezeptors wird dann ATP in einer Konzentration von 1-2 µM zugegeben und das ATP-induzierte Kalzium-Signal in einem Luminometer als Aequorin-Lumineszenz gemessen.

Substanzen mit antagonistischer Aktivität am P2X₄-Rezeptor können das ATP-induzierte Kalzium-Signal entweder durch Interferenz mit der Bindung von ATP an den P2X₄-Rezeptor, durch Ver-
hinderung der Kanal-Öffnung oder durch Blockade des Kalzium-Einstroms durch den geöffneten
20 Kanal hemmen.

Die Ausführungsbeispiele 1 – 3 zeigen in diesem Test IC₅₀-Werte von 0,5, 2 bzw. 0,6 µM.

b) ATP-induzierte Sauerstoffradikal-Bildung (ROS) in primären humanen Monozyten:

Der Assay wird in Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) durchgeführt, der 10 mM Glucose zuge-
geben wird. Monozyten werden z.B. unter Verwendung des "Becton Dickinson Vacutainer
25 System" isoliert, wie vom Hersteller beschrieben, und in HBSS suspendiert. Der Nachweis der Sauerstoffradikale erfolgt im Prinzip nach der Luminol-verstärkten Chemolumineszenz-Methode in Gegenwart von Horse Radish Peroxidase (HRPO) [H. Lundqvist, C. Dahlgren, *Free Radic. Biol. Med.* 20 (6): 785-92 (1996)].

Zunächst werden die zu untersuchende Substanz, Luminol (50 µM Endkonzentration), HRPO
30 (10 U/ml Endkonzentration) mit 5 x 10⁵ Monozyten für 15 min bei 37°C inkubiert. Dann wird dem Testansatz ATP (100 µM Endkonzentration) zugegeben. Das Endvolumen im Testansatz beträgt

200 µl. Unmittelbar nach Zugabe von ATP wird die ROS-Bildung mit einem Microplate-Luminometer über einen Zeitraum von 120 Sekunden verfolgt.

c) ATP-induzierte Chemotaxis von primären humanen Monozyten:

Monozyten werden nach Standardmethoden aus Blut isoliert. Die Chemotaxis der Monozyten wird
5 in einem Transwell-System beobachtet [C.C. Bleul et al., *J. Exp. Med.* 184: 1101-1109 (1996)]. Die benutzte Membran (3 µm Porengröße, Polyethylenterephthalat, Fa. Falcon) wird zuerst mit Fibronectin beschichtet. 10⁵ Monozyten in RPMI 1640-Medium werden in die obere Kammer gegeben. Die untere Kammer enthält variierende Konzentrationen an Stimulus oder konstante Stimuluskonzentration (500 µM ATP oder 10 nM MCP-1) und variierende Konzentrationen der
10 Testsubstanz. Die zu untersuchenden Substanzen befinden sich in beiden Kammern. Der Testansatz wird für 3 h bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert [W. Falk et al., *J. Immunol. Methods* 38: 239-247 (1980)]. Nach der Inkubation werden die Zellen bestimmt, die in die untere Kammer gewandert sind.

D. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen:

15 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

Tablette:

Zusammensetzung:

100 mg der Verbindung von Beispiel 1, 50 mg Lactose (Monohydrat), 50 mg Maisstärke (nativ),
20 10 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP 25) und 2 mg Magnesiumstearat.

Tablettengewicht 212 mg, Durchmesser 8 mm, Wölbungsradius 12 mm.

Herstellung:

Die Mischung aus Wirkstoff, Lactose und Stärke wird mit einer 5%-igen Lösung (m/m) des PVPs in Wasser granuliert. Das Granulat wird nach dem Trocknen mit dem Magnesiumstearat 5 min.
25 lang gemischt. Diese Mischung wird mit einer üblichen Tablettenpresse verpresst (Format der Tablette siehe oben). Als Richtwert für die Verpressung wird eine Presskraft von 15 kN verwendet.

Oral applizierbare Suspension:**Zusammensetzung:**

1000 mg der Verbindung von Beispiel 1, 1000 mg Ethanol (96%), 400 mg Rhodigel® (Xanthan gum der Fa. FMC, Pennsylvania, USA) und 99 g Wasser.

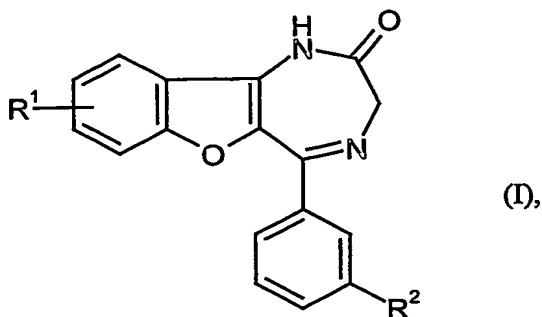
- 5 Einer Einzeldosis von 100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung entsprechen 10 ml orale Suspension.

Herstellung:

Das Rhodigel wird in Ethanol suspendiert, der Wirkstoff wird der Suspension zugefügt. Unter Rühren erfolgt die Zugabe des Wassers. Bis zum Abschluss der Quellung des Rhodigels wird ca. 6 h gerührt.

Patentansprüche:

1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



in welcher

5 R¹ Halogen

und

R² Wasserstoff, Halogen, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel -C(O)-OR³, -C(O)-NR⁴R⁵, -SO₂-OR³ oder -SO₂-NR⁴R⁵, worin

R³, R⁴ und R⁵ unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C₁-C₆)-Alkyl stehen,

10 oder

R¹ Wasserstoff

und

R² Halogen, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel -C(O)-OR³, -C(O)-NR⁴R⁵, -SO₂-OR³ oder -SO₂-NR⁴R⁵, worin

15 R³, R⁴ und R⁵ unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C₁-C₆)-Alkyl stehen,

bedeutet,

und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

2. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) nach Anspruch 1, in welcher

R¹ Chlor oder Brom

20 und

R^2 Wasserstoff, Chlor, Brom, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$ oder $-C(O)-NR^4R^5$, worin

R^3 , R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl stehen,

oder

5 R^1 Wasserstoff

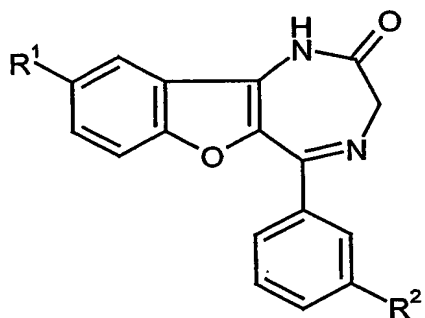
und

R^2 Chlor, Brom, Nitro, Cyano oder eine Gruppe der Formel $-C(O)-OR^3$ oder $-C(O)-NR^4R^5$, worin

R^3 , R^4 und R^5 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl stehen,

10 bedeutet.

3. Verbindungen der Formel (Ia)



(Ia),

in welcher

R^1 Chlor oder Brom

15 und

R^2 Wasserstoff, Chlor, Brom, Nitro oder Cyano,

oder

R^1 Wasserstoff

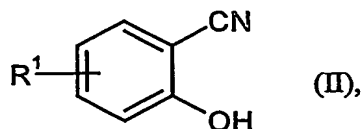
und

20 R^2 Chlor, Brom, Nitro oder Cyano

bedeutet,

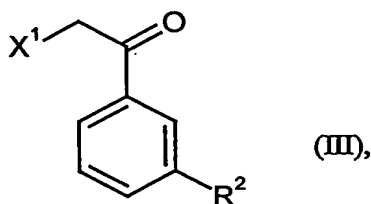
und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

4. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) bzw. (Ia), wie in den Ansprüchen 1 bis 3 definiert, dadurch gekennzeichnet, dass man Verbindungen der Formel (II)



in welcher R¹ die oben angegebenen Bedeutungen hat,

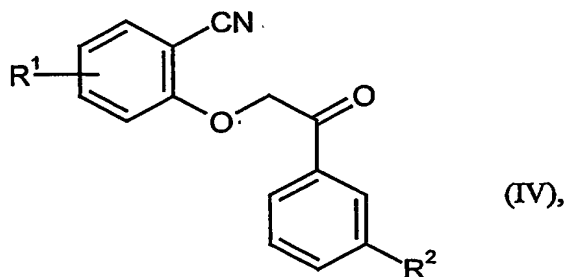
in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer Base mit einer Verbindung der Formel (III)



in welcher R² die oben angegebenen Bedeutungen hat und

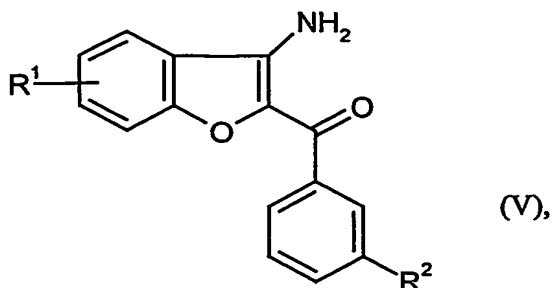
X¹ für eine geeignete Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom oder Iod steht,

zunächst zu Verbindungen der Formel (IV)



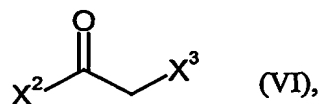
in welcher R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

umsetzt, diese dann unter zwischenzeitlicher Isolierung oder in einer Eintopfreaktion in Gegenwart einer Base zu Verbindungen der Formel (V)



in welcher R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

cyclisiert, anschließend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer Base mit einer Verbindung der Formel (VI)

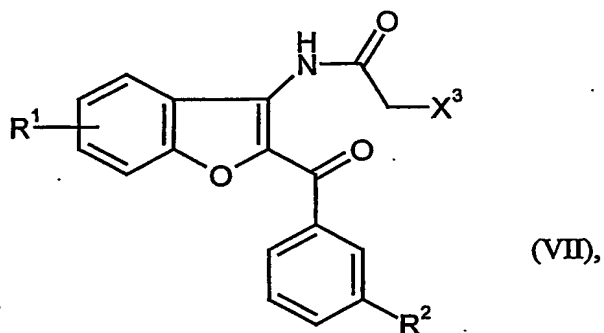


5

in welcher

X² und X³ gleich oder verschieden sind und für eine geeignete Abgangsgruppe wie beispielsweise Chlor, Brom oder Iod stehen,

in Verbindungen der Formel (VII)



10

in welcher R¹, R² und X³ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

überführt, abschließend in einem inerten Lösungsmittel mit Ammoniak unter Cyclisierung umgesetzt und die resultierenden Verbindungen der Formel (I) gegebenenfalls mit den entsprechenden Lösungsmitteln und/oder Basen oder Säuren in ihre Solvate, Salze und/oder Solvate der Salze überführt.

15

5. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.
6. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung von Arzneimitteln.
- 5 7. Arzneimittel enthaltend mindestens eine der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3 in Kombination mit mindestens einem pharmazeutisch verträglichen, pharmazeutisch unbedenklichen Träger oder Exzipienten.
8. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Arteriosklerose und Restenose.
- 10 9. Arzneimittel nach Anspruch 7 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Arteriosklerose und Restenose.
10. Verfahren zur Bekämpfung von Arteriosklerose und Restenose in Menschen und Tieren durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D491/04 A61K31/551 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	DATABASE CHEMCATS 'ONLINE! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US, RETRIEVED FROM STN; XP002286040 Order Number STOCK3S-12084. & "Interbioscreen Compound Library", 9 May 2003, INTERBIOSCREEN LTD, Moscow, Russia. -----	1-3
P, X	DATABASE CHEMCATS 'ONLINE! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US, RETRIEVED FROM STN; XP002286041 Order Number STOCK1N-32008. & "Interbioscreen Compound Library", 9 May 2003, INTERBIOSCREEN LTD, Moscow, Russia. ----- -/--	1-3



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 June 2004

Date of mailing of the international search report

12/07/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Weisbrod, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/002580

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 350 131 A (DUPHAR INT RES) 10 January 1990 (1990-01-10) cited in the application	1-3,5-7
A	Abstract; claim 1; examples 33, 36, 57.	4,8-10
A	WO 01/51490 A (US HEALTH ; JACOBSON KENNETH A (US); MARQUEZ VICTOR E (US)) 19 July 2001 (2001-07-19) Abstract; claims 1,4,9.	1-10
A	MILLER K J ET AL: "Cibacron blue allosterically modulates the rat P2X4 receptor" NEUROPHARMACOLOGY, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 37, no. 12, December 1998 (1998-12), pages 1579-1586, XP000926481 ISSN: 0028-3908 Abstract; chapter 3.3: "effects of antagonists".	1-10
A	DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002286042 Database Accession No. 6561550; zeigt die Struktur von dem in D5 erwähnten "Cibacron Blue". & J. PHYS. CHEM., vol. 87, no. 8, 1983, pages 1329-1337,	1-10
A	DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002286043 Database Accession No. 8185304: P2X-Antagonist Suramin, siehe "Pharmacological Data" 61 und 62 von 68. abstract & MOL. PHARMACOL., vol. 48, no. 1, 1995, pages 178-183,	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/002580

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 10 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compounds.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/002580

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0350131	A	10-01-1990	AU 626892 B2	13-08-1992
			AU 3795489 A	11-01-1990
			CA 1315781 C	06-04-1993
			CN 1040027 A ,B	28-02-1990
			DK 330689 A	08-01-1990
			EP 0350131 A2	10-01-1990
			FI 893250 A ,B,	08-01-1990
			HU 204528 B	28-01-1992
			IL 90865 A	27-02-1994
			JP 2059582 A	28-02-1990
			NO 892772 A ,B,	08-01-1990
			NZ 229815 A	26-03-1992
			PT 91052 A ,B	08-02-1990
			US 4985423 A	15-01-1991
			US 5140024 A	18-08-1992
			ZA 8905086 A	30-05-1990
WO 0151490	A	19-07-2001	AU 3091301 A	24-07-2001
			CA 2397366 A1	19-07-2001
			EP 1252160 A1	30-10-2002
			WO 0151490 A1	19-07-2001

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D491/04 A61K31/551 A61P9/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	DATABASE CHEMCATS 'ONLINE! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US, RETRIEVED FROM STN; XP002286040 Order Number STOCK3S-12084. & "Interbioscreen Compound Library", 9 May 2003, INTERBIOSCREEN LTD, Moscow, Russia.	1-3
P, X	DATABASE CHEMCATS 'ONLINE! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US, RETRIEVED FROM STN; XP002286041 Order Number STOCK1N-32008. & "Interbioscreen Compound Library", 9 May 2003, INTERBIOSCREEN LTD, Moscow, Russia. ----- -/--	1-3

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. Juni 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

12/07/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Weisbrod, T

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 350 131 A (DUPHAR INT RES) 10. Januar 1990 (1990-01-10) in der Anmeldung erwähnt	1-3,5-7
A	Abstract; claim 1; examples 33, 36, 57. -----	4,8-10
A	WO 01/51490 A (US HEALTH ; JACOBSON KENNETH A (US); MARQUEZ VÍCTOR E (US)) 19. Juli 2001 (2001-07-19) Abstract; claims 1,4,9. -----	1-10
A	MILLER K J ET AL: "Cibacron blue allosterically modulates the rat P2X4 receptor" NEUROPHARMACOLOGY, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, Bd. 37, Nr. 12, Dezember 1998 (1998-12), Seiten 1579-1586, XP000926481 ISSN: 0028-3908 Abstract; chapter 3.3: "effects of antagonists". -----	1-10
A	DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002286042 Database Accession No. 6561550; zeigt die Struktur von dem in D5 erwähnten "Cibacron Blue". & J. PHYS. CHEM., Bd. 87, Nr. 8, 1983, Seiten 1329-1337, -----	1-10
A	DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002286043 Database Accession No. 8185304: P2X-Antagonist Suramin, siehe "Pharmacological Data" 61 und 62 von 68. Zusammenfassung & MOL. PHARMACOL., Bd. 48, Nr. 1, 1995, Seiten 178-183, -----	1-10

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/002580

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl sich Anspruch 10 auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindungen.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0350131	A	10-01-1990	AU 626892 B2 13-08-1992
			AU 3795489 A 11-01-1990
			CA 1315781 C 06-04-1993
			CN 1040027 A ,B 28-02-1990
			DK 330689 A 08-01-1990
			EP 0350131 A2 10-01-1990
			FI 893250 A ,B, 08-01-1990
			HU 204528 B 28-01-1992
			IL 90865 A 27-02-1994
			JP 2059582 A 28-02-1990
			NO 892772 A ,B, 08-01-1990
			NZ 229815 A 26-03-1992
			PT 91052 A ,B 08-02-1990
			US 4985423 A 15-01-1991
			US 5140024 A 18-08-1992
			ZA 8905086 A 30-05-1990
WO 0151490	A	19-07-2001	AU 3091301 A 24-07-2001
			CA 2397366 A1 19-07-2001
			EP 1252160 A1 30-10-2002
			WO 0151490 A1 19-07-2001